



**-UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA-
-DIRECCION GENERAL DE INVESTIGACION-
-FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA-
-NIVEL INTRODUCTORIO-
-DEPARTAMENTO DE CC QQ Y BIOQUIMICA**



Informe final de Investigación

**Determinación y cuantificación de sulfitos en
muestras de embutidos expendidos en diferentes
mercados de la ciudad de Guatemala.**

**EJECUTADO POR
M.V. MARÍA ANDREA MUÑOZ**

**SUPERVISADO POR:
LIC. BIOL. CARLOS FRANCISCO CHINCHILLA**

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2007

I. INTRODUCCIÓN

En la industria alimenticia es común la práctica de agregar preservantes a los alimentos con el fin de reducir la actividad bacteriana y por supuesto evitar la descomposición de los alimentos, la aplicación de preservantes en la industria de los embutidos no es la excepción, las empresas registradas mantienen un control aparente sobre cuales y cuanto de cada preservante se aplica a los embutidos incluyendo en sus empaques información al respecto, sin embargo las personas que elaboran embutidos de forma artesanal y que expenden sus productos en los mercados de la ciudad de Guatemala, aun tienen la costumbre de agregar sulfitos como preservantes a los embutidos que elaboran. Los sulfitos simplemente están prohibidos según las normas COGUANOR, por lo que no deben de aparecer en los alimentos.

Los sulfitos tienen consecuencias serias sobre la salud humana, especialmente en personas que sufren de reacciones alérgicas relacionadas con asma, es por esto que se consideran sustancias indeseables en los alimentos.

Aunque existe una normativa con respecto al uso de este tipo de preservantes no existe ningún monitoreo sobre la calidad de los alimentos que permita llevar un verdadero control.

Con el fin de establecer si en realidad se utilizan en gran medida sulfitos en la elaboración de embutidos de forma artesanal y de difundir los resultados, se plantea el presente proyecto de investigación.

II. HIPÓTESIS

Todas las muestras obtenidas darán positivo a la prueba para la identificación de la presencia de sulfitos, y al cuantificarlos sus concentraciones mostrarán variaciones significativas.

III. OBJETIVOS

3.1 General:

Generar información sobre la calidad de alimentos producidos de forma artesanal y expendidos en la ciudad de Guatemala.

3.2 Específicos:

- Establecer la presencia de sulfitos a través del reactivo verde de malaquita como reactivo de identificación, en muestras de embutidos crudos (chorizo y longaniza), obtenidas en algunos mercados de la ciudad de Guatemala.
- Realizar un análisis cuantitativo del contenido de sulfitos a las muestras que den positivo en la prueba de identificación.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA:

4.1 Los aditivos en los alimentos

Los aditivos alimentarios son sustancias que se añaden a los alimentos intencionalmente con el fin de modificar sus propiedades, técnicas de elaboración, conservación o mejorar su adaptación al uso a que estén destinados, en ningún caso tienen un papel enriquecedor del alimento.

En aquellos casos en los que la sustancia añadida es eliminada, o la cantidad de ella que queda en el alimento no tiene función alguna, no se considera un aditivo sino un agente auxiliar de fabricación. (Reartes, 2001).

Un aditivo es cualquier sustancia que no se consume normalmente como alimento por sí misma ni se usa normalmente como ingrediente típico del alimento, tenga o no valor nutritivo, cuya adición intencional al alimento para un fin tecnológico (inclusive organoléptico) en la fabricación, elaboración, tratamiento, envasado, empaque, transporte o almacenamiento provoque, o pueda esperarse razonablemente que provoque directa o indirectamente, el que ella misma o sus subproductos lleguen a ser un complemento del alimento o afecten sus características. Esta definición no incluye los contaminantes, ni las sustancias añadidas al alimento para mantener o mejorar las cualidades nutricionales. (COGUANOR, 2006).

4.2 Clasificación de los aditivos alimentarios según su función:

- Sustancias que impiden las alteraciones químicas biológicas (antioxidantes, sinérgicos de antioxidantes y conservantes).

- Sustancias estabilizadoras de las características físicas (emulgentes, espesantes, gelificantes, antiespumantes, antipelmazantes, antiaglutinantes, humectantes, reguladores de pH).
- Sustancias correctoras de las cualidades plásticas. (mejoradores de la panificación, correctores de la vinificación, reguladores de la maduración).
- Sustancias modificadoras de los caracteres organolépticos (colorantes, potenciadores del sabor, edulcorantes artificiales, aromas). (Reartes, 2001)

4.3 Principales funciones de los aditivos alimentarios

- Asegurar la seguridad y la salubridad
- Contribuir a la conservación
- Hacer posible la disponibilidad de alimentos fuera de temporada
- Aumentar o mantener el valor nutritivo
- Potenciar la aceptación del consumidor
- Facilitar la preparación del alimento. (Reartes, 2001)

4.4 Principios a tener en cuenta para el uso de aditivos según la FAO

- No se debe usar un aditivo no autorizado por la legislación vigente

- No se debe añadir en cantidades que sobrepasen el mínimo necesario para conseguir el fin que se persigue
- Nunca se debe utilizar un aditivo para esconder un defecto de fabricación o manipulación.
- No se puede utilizar cuando el fin se puede conseguir por un proceso tecnológico rentable
- No se deben usar en alimentos básicos o exclusivos de una dieta
- Cuando se emplean se debe hacer constar en el etiquetado.

4.5 Uso de los aditivos alimenticios

Las razones por las que se emplean los aditivos en la industria alimentaria son las siguientes:

a. Razones económicas y sociales

El uso de ciertos aditivos permite que los alimentos duren más tiempo lo que hace que exista mayor aprovechamiento de los mismos y por tanto se puedan bajar los precios y que exista un reparto más homogéneo de los mismos.

b. Razones de preferencia y de tecnología

El alimento ha de ser atractivo para el consumidor ya que sino éste no lo comprará, si no añadiéramos colorantes a la mermelada de fresa, ésta no presentaría este color rojo que la hace tan apetecible, sino que presentaría un color grisáceo debido

a los tratamientos a los que se la somete. De igual forma los aditivos permiten realizar determinados tratamientos tecnológicos que sin ellos sería imposible.

c. Razones nutricionales

En los alimentos pueden desarrollarse reacciones químicas que disminuyan el valor nutritivo del alimento e incluso generen compuestos tóxicos. (Rearte, 2001).

Aditivos alimentarios que frecuentemente se consideran causantes de reacciones adversas

Nombre del aditivo	Propósito
<i>Aspartame</i>	<i>Edulcorante</i>
<i>Benzoatos</i>	<i>Preservantes</i>
<i>BHA, BHT</i>	<i>Antioxidantes</i>
<i>Tintes FD&C</i>	<i>Colorantes</i>
<i>GMS-Glutamato monosódico</i>	<i>Saborizantes</i>
<i>Nitratos/Nitritos</i>	<i>Preservantes</i>
<i>Parabenos</i>	<i>Preservantes</i>
<i>Sulfitos</i>	<i>Preservantes</i>

4.6 Preservantes

El problema del deterioro microbiano de los alimentos tiene implicaciones económicas evidentes, tanto para los fabricantes (deterioro de materias primas y productos elaborados antes de su comercialización, pérdida de la imagen de marca, etc.) como para distribuidores y consumidores (deterioro de productos después de su adquisición y antes de su consumo y riesgo de intoxicación por consumo), de manera que se hace necesario utilizar preservantes ya que o retardan la fermentación, enmohecimiento o putrefacción del alimento causado por los microorganismos.

Las condiciones de uso de los preservantes están reglamentadas estrictamente en todos los países del mundo. Usualmente existen límites a la cantidad que se puede añadir de un preservante y a la de preservantes totales. (Reartes, 2001).

Los preservantes alimentarios, a las concentraciones autorizadas, no matan en general a los microorganismos, sino que solamente evitan su proliferación. Por lo tanto, solo son útiles con materias primas de buena calidad. (Reartes, 2001).

4.7 Los sulfitos como preservantes

El término agentes sulfatantes se emplea para describir el dióxido de azufre y otros sulfitos inorgánicos que se pueden utilizar como aditivos en alimentos, bebidas y productos farmacéuticos.

El dióxido de azufre es un gas no inflamable incoloro que se disuelve fácilmente en agua, se hidrata para formar ácido sulfuroso y entonces disociarse a bisulfito y sulfito. En condiciones fisiológicas a pH 7.4, el sulfito es la forma química predominante. Sin embargo, a solución el sulfito se asocia a un protón y forma bisulfito y ácido sulfuroso.

Dada esta capacidad de transformación, las concentraciones de sulfitos en alimentos se pueden expresar en forma de partes por millón de dióxido de azufre, el contenido de dióxido de azufre se expresa en forma de equivalentes de dióxido de miligramos de sulfito (ppm de dióxido de azufre miligramos de sulfito por Kg. de alimento).

Se ha de tener en cuenta que cuando se identifican las concentraciones de sulfitos en los alimentos, los resultados se expresan como dióxido de azufre bien fijado. Normalmente, el dióxido de azufre se expresa en forma de dióxido de azufre total.

El anhídrido sulfuroso y los sulfitos son muy utilizados para la conservación de zumos de uva, mostos y vinos, así como para la de la sidra y vinagre. También se utiliza como conservante en salsas de mostaza y especialmente en los derivados de fruta (zumos, etc.) que van a utilizarse como materia prima para otras industrias. (Reartes, 2001).

Los sulfitos actúan como antioxidantes, inhibiendo especialmente las reacciones de oscurecimiento producidas por ciertas enzimas en vegetales y crustáceos. Con este fin se autoriza su uso en conservas vegetales y aceitunas de mesa, cefalópodos congelados y crustáceos. También se utiliza como antioxidante en zumos y cervezas. También se puede utilizar para mejorar el aspecto de la carne y dar impresión de mayor frescura, pero esta última práctica se considera un fraude, al engañar al comprador respecto a la calidad real.

Durante el cocinado o procesado industrial de los alimentos el anhídrido sulfuroso y sulfitos se pierden en parte por evaporación o por combinación con otros componentes. Los límites legales se expresan siempre en contenido de anhídrido sulfuroso.

Los siguientes compuestos componen al grupo de los sulfitos:

- Anhídrido sulfuroso
- Sulfito sódico
- Sulfito ácido de sodio (bisulfito sódico)
- Bisulfito sódico (metabisulfito sódico o pirosulfito sódico)
- Bisulfito potásico (metabisulfito potásico o pirosulfito potásico)
- Sulfito cálcico
- Sulfito ácido de calcio (bisulfito cálcico)
- Sulfito ácido de potasio (bisulfito potásico)

4.8 Impacto de los sulfitos en la salud humana

El grupo de compuestos conocidos como sulfitos está constituido por compuestos tales como el bióxido de sulfuro, sulfito de sodio o de potasio, bisulfito, y meta-bisulfito, pueden encontrarse en varios alimentos, incluyendo productos horneados, té, condimentos y escabeches, mariscos y pescado procesado, mermeladas y jaleas, fruta seca, jugos de frutas, verduras enlatadas y deshidratadas, papas congeladas y deshidratadas y mezclas de sopas, en bebidas, como cerveza, vino, vinos con sabor y sidra fermentada y en nuestro medio, en embutidos tales como chorizos y longanizas sospechándose que las concentraciones pueden llegar a ser muy altas.

Los sulfitos tienen gran capacidad de reacción y se combinan con numerosos compuestos biológicos, como carbohidratos, nucleótidos y puentes disulfuro de las proteínas, provocando síntomas como opresión en el pecho, urticaria, retortijones, diarrea, disminución de la presión arterial, sensación de cabeza ligera, debilidad y aceleración del pulso y ataques repentinos en pacientes que sufren de asma ya que actúan destruyendo la tiamina (vitamina B1 (Reartes, 2001).

En el metabolismo humano el sulfito ingerido con los alimentos es transformado en sulfato por un enzima presente sobre todo en los riñones, hígado y corazón, que es la responsable de la eliminación del sulfito producido en el propio organismo durante el metabolismo de los aminoácidos que contienen azufre.(Reartes, 2001).

Ante los efectos nocivos que pueden producir el anhídrido sulfuroso y los sulfitos en ciertas personas, se ha planteado reiteradamente su sustitución por otros preservantes; esto es prácticamente imposible en el caso de su aplicación en la industria del vino, aunque sí en las demás, especialmente en sus aplicaciones como antioxidante. (Reartes, 2001).

4.9 Indicios de reacciones específicas en el metabolismo humano

a. Generación de dióxido de azufre

La reactividad inducida por el dióxido de azufre mediada por receptores colinérgicos aferentes presentes en el árbol traquiobronquial es una característica general de los individuos asmáticos es el posible mecanismo de inducción de reacciones por la inhalación o ingestión de sulfitos en asmáticos.

La cantidad de dióxido de azufre generado por los sulfitos en disolución depende del pH y de la temperatura, el ambiente calido y acido de la boca se favorece esta producción.

La generación de dióxido de azufre en el estómago podría explicar el desarrollo de reacciones no asmáticas tales como urticaria y angioedema, dolor abdominal, espasmos y diarrea inducidos por sulfitos.

La producción del gas en un estomago ya distendido por los alimentos podría dar lugar a una estimulación vagal, que a su vez, incrementaría la motilidad gastrointestinal y una urticaria de tipo colinérgico, además, también se produciría una mayor producción de gastrina, que estimularía la secreción de histamina por los mastocitos cutáneos. La liberación de histamina podría ser el origen de cualquiera de los síntomas atribuidos a los sulfitos, asma, urticaria, anafilaxia, patología gastrointestinal, cefaleas o rubor.

b. Mecanismos mediados por la inmunoglobulina IgE

Simon *et al*/en un estudio sobre asma sensible a sulfitos identificaron anticuerpos reaginicos contra el metabisulfito potásico mediante pruebas directas cutáneas o liberación de histamina leucocitaria en 24 pacientes, identificando posteriormente dos casos de sensibilidad intensa a sulfitos, con reacciones cutáneas positivas que se podían transferir. El calentamiento del suero a 56 °C durante 30 minutos suprimía la actividad sensibilizante cutánea, lo que apoyaría la creencia de que el anticuerpo

implicado es la IgE, sin embargo, el sulfito es una molécula excesivamente pequeña para actuar como un antígeno completo.

Son necesarios más estudios para demostrar la hipótesis de que el sulfito pueda ser considerado y que actúe como hapteno.

c. Déficit de sulfito oxidasa

Durante el metabolismo de cualquier aminoácido que contenga azufre se genera sulfito, en general, los sulfitos son rápidamente oxidados a sulfatos inactivos por la acción de la enzima sulfito oxidasa, esta enzima se encuentra en las membranas internas y externas de las mitocondrias y su actividad depende del molibdeno como cofactor.

La enzima sulfito oxidasa se encuentra en la mayoría de las células, sobre todo en las del hígado, donde las concentraciones son especialmente altas. La hipótesis de que algunos individuos asmáticos sensibles a sulfitos pudieran tener niveles reducidos de sulfito oxidasa, explicaría que sería insuficiente para metabolizar sobrecargas de sulfitos del aire, alimentos y productos farmacéuticos, aunque si pudiesen oxidar completamente la producción endógena de sulfitos.

La carga de sulfito resultante podría superar la capacidad de los mecanismos de compensación dando lugar al asma.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIALES

5.1.1 Recursos Humanos

- 1 Auxiliar de investigación II (4 HD) por 2 meses
- 1 Supervisor experimental
- Personal técnico y profesional del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

5.1.2 Recursos Materiales

18 muestras de embutidos (2 muestras por mercado) provenientes de los siguientes mercados:

	Mercado	Zona en la ciudad capital
1	Colonia Venezuela	21
2	Colonia Justo Rufino Barrios	21
3	Central	1
4	Colonia Reformita	12
5	Colonia Roosevelt	11
6	La Presidenta	1
7	Palmita	5
8	Colonia Quinta Samayoa	7
9	Colonia La Florida	19

1 Ciento de bolsas plásticas de 1 libra

1 rollo cinta Maskin tape

1 Hielera grande

5.1.3 Recursos de Laboratorio:

- Congelador
- Refrigerador
- Espectrofotómetro rango visible Marca Spectronic 20
- Baño de maría
- Centrífuga
- Agitador eléctrico
- Balanza analítica
- Cubetas de espectrofotometría
- Pipetas de 5 y 10 ml.
- Balones aforados
- Beakers de distinto tamaño
- Probetas
- Tubos de ensayo
- Varillas de vidrio
- Vidrios de reloj
- Gradillas
- Espátula de metal
- Pizetas
- 1 par de tijeras
- 1 caja de papel parafilm
- Marcadores
- Maskin tape
- Toallas de papel
- Jabón

5.1.3.1 Reactivos de Laboratorio

- Bisulfito de sodio
- Colorante Verde de malaquita 25%
- Solución de Bicarbonatos al 5%

5.2 METODOLOGÍA

La investigación se realizó en el laboratorio del Departamento de Ciencias Químicas y Bioquímicas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ubicados en el 3er. Nivel del edificio M7 en la Universidad de San Carlos de Guatemala, ciudad universitaria, zona 12, partiendo del análisis de 18 muestras en total de embutidos (chorizos y longanizas), obtenidas de 9 mercados de la ciudad capital.

La investigación tuvo una duración de 2 meses calendario y se inició en el mes de Septiembre.

5.2.1 Diseño experimental

Para la obtención de la muestras se procedió a realizar un muestreo preferencial en los 9 mercados mencionados en el apartado anterior, para ello se adquirieron dos muestras (libras), de cada uno de los dos tipos de embutidos, en este caso chorizos y longanizas, en cada una de los mercados, verificándose que se trataran de embutidos de elaboración artesanal.

La unidad experimental la constituyó cada unidad (chorizo o longaniza) de la muestra. La variable independiente en este caso es la procedencia de las muestras y la variable respuesta (variable de medición), fue la concentración de sulfito en gramos por cada gramo del material analizado en cada unidad experimental.

El muestreo se dividió en dos partes la primera que se ejecutó en la primera semana del experimento y que se refiere a la obtención de la primera serie de 18 muestras (se visitaron todos los mercados y se muestrearon obteniendo 2 muestras por

mercado), y la segunda parte fue la obtención de la otra serie de 18 muestras, la cual se realizó en la cuarta semana del experimento.

Las muestras obtenidas se colocaron en bolsas de 2 libras, se identificaron con fecha y procedencia y fueron colocadas en una hielera grande para su traslado al laboratorio, se analizaron cinco muestras por semana requiriéndose 7 semanas en total para el análisis químico y una semana para la tabulación y el análisis de la información.

5.2.2 Análisis de Laboratorio

5.2.2.1 Determinación de la presencia de sulfitos en las muestras.

Reacción del verde de malaquita:

Cada una de las unidades experimentales fue identificada con un número de serie, fecha y procedencia, y se procedió a la obtención de una unidad (unidad experimental), la cual se trituró y homogenizó con 100 ml de solución de carbonatos al 5% en un beaker. Se extendió una pequeña cantidad de carne problema sobre un trozo de 20 por 20 centímetros cuadrados de papel parafinado, añadiendo 0.5 ml de la solución al 25% de verde de malaquita, se mezcló durante 2 a 3 minutos, se observó si hay o no coloración. Cuando la muestra no contiene sulfitos se torna de un color azul-verde (intenso) y cuando los contiene decoloran el colorante de manera que la coloración es poco intensa o simplemente no existe.

5.2.2.2 Obtención de la curva de calibración en el espectrofotómetro

Durante la primera semana de experimentación y paralelo a la obtención de la primera serie de muestras se procedió a la preparación del equipo y el instrumental de laboratorio y a la preparación de una serie de muestras patrón por duplicado (muestras con los reactivos de interés, con concentraciones conocidas y en orden ascendente de concentración), para la calibración del espectrofotómetro.

Para obtener dicha curva lo primero que se realizó fue la obtención del espectro de absorción, de la siguiente manera:

- Se tomó una cuveta para espectrofotometría completamente limpia, se le agregó agua destilada hasta la marca de llenado (blanco para la calibración) el blanco es el punto de referencia que permite cada vez que se inserta la celda con una muestra la calibración a un nivel 2 de absorbancia o 100 % de transmitancia, el parámetro a escoger queda siempre a criterio del investigador, sin embargo para fines de esta investigación se trabajó con absorbancia.
- Del lado izquierdo superior del espectrofotómetro se encuentra la perilla que controla la longitud de onda a la cual se hacen lecturas, se debe girar dicha perilla hasta llegar a 300 nm, este es el punto inicial de la variable dependiente.
- Se introdujo el blanco dentro de la celda o compartimiento que se encuentra sobre el lado izquierdo del aparato, se cierra el compartimiento y se calibra el aparato (en A o T). Se gira la perilla del lado izquierdo hasta que la aguja del espectrofotómetro esté justamente en 0% de Transmitancia (T), o 2 de Absorbancia (A) en el dial.

OBTENCIÓN DE LAS SOLUCIONES PATRÓN DE SULFITOS

- Se prepararon 100 ml de cada solución de sulfitos a concentraciones conocidas de la siguiente manera:
 - Primero se prepararon 2,000 ml de una mezcla de solución de bicarbonato al 5%.
 - Luego se tomaron 17 balones aforados se rotularon con las concentraciones conocidas y se le agregaron 100 ml de la mezcla anterior.
 - En la balanza analítica se pesaron las cantidades en gramos de cada solución patrón, y se homogenizaron con la ayuda del agitador eléctrico.
- Se introdujo el blanco dentro de la celda o compartimiento que se encuentra sobre el lado izquierdo del aparato, se cierra el compartimiento y se calibra (en A

- o T). Se gira la perilla del lado izquierdo hasta que la aguja del espectrofotómetro esté justamente en 0% de Transmitancia (T), o 2 de Absorbancia (A) en el dial.
- o Se colocaron 20 ml de solución de sulfitos de concentración conocida y se le agregó 5 ml del reactivo de identificación (verde de malaquita al 25%), en un beaker y de esa mezcla se agregaron 10 ml en una cuveta del espectrofotómetro, teniendo cuidado de no ensuciar su superficie con agua, reactivo, grasa, etc.
 - o La cuveta se sujeta de los lados opacos o esmerilados y se introduce dentro del compartimiento del espectrofotómetro para realizar la lectura de la absorbancia obtenida.
 - o Se aumenta la longitud de onda en 20, es decir que ahora la perilla deberá girarse hasta 320 nm.
 - o El aparato se calibra con el blanco, para esto se introduce de nuevo la cuveta con la muestra y de nuevo se toma la lectura de absorbancia. Se debe repetir el mismo procedimiento aumentando en 20 nm cada vez hasta que llegue a 700 nm.
 - o Se colocaron los resultados en la siguiente tabla:

No	Longitud de onda (eje x)	Absorbancia (eje y)
1	300	
2	320	
3	340	
4	360	

5	380	
6	400	
7	420	
8	440	
9	460	
10	480	
11	500	
12	520	
13	540	
14	560	
15	580	
16	600	
17	620	
18	680	
19	700	

- En base a los resultados de las absorbancias obtenidas y utilizando el programa de excel, se debe graficar los resultados para encontrar la longitud de onda a la cual dicha sustancia presenta la máxima absorbancia en el espectrofotómetro. Todo el procedimiento siguiente se realizó siempre con una lectura de longitud de onda igual a la obtenida en esta sección.

5.2.2.3. Obtención de la curva de calibración

- El aparato se calienta durante 15 minutos, para luego calibrarlo en la longitud de onda óptima obtenida para la solución de la sección anterior utilizando una cuveta con agua destilada como blanco.

- Se colocaron en tubos de ensayo rotulados 10ml de solución patrón de sulfitos 5 ml de verde de malaquita (25%), para luego pasar 10 ml de la mezcla a una cuveta del espectrofotómetro y así obtener la absorbancia respectiva.
- Complete la siguiente tabla (realice el mismo procedimiento dos veces y obtenga un promedio):

Tubo	[] en gr/lt X	Absorbancia Y	XY	X ²
1	0.001			
2	0.002			
3	0.005			
4	0.010			
5	0.020			
6	0.050			
7	0.100			
8	0.200			
9	0.500			
10	1.000			
11	1.500			
12	2.000			
13	2.500			
14	3.000			
16	3.500			
17	4.000			
	ΣX	ΣY	ΣXY	ΣX^2

- Utilizando una calculadora y el programa de excel se sustituyeron los datos de la tabla en las siguientes ecuaciones:

$$b = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

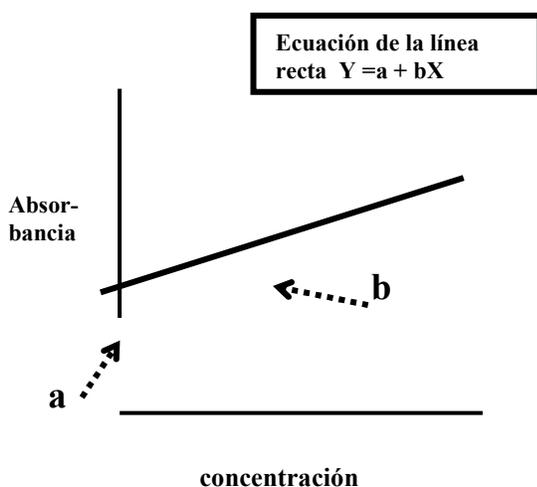
$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

- Los datos **a** y **b** corresponden a la ecuación de la línea recta, del modelo estadística de regresión lineal, el cual es de utilidad para proyectar, predecir y en nuestro caso cuantificar sustancias.

De esa manera se obtiene la ecuación de la línea recta o recta de mínimos cuadrados:

$$Y = a + bX$$

Donde X representa la concentración y Y la absorbancia y si se tuviera una gráfica, **a** está representando el punto en el cual la línea recta obtenida se corta con el eje y, mientras que **b** representa la pendiente de la ecuación o de la gráfica.



5.2.2.4 Obtención de la concentración de las muestras desconocida

- Utilizando la balanza analítica se pesaron cada una de las unidades experimentales. Luego, se trituraron una a una en un beaker y se homogenizaron agregando 100 ml de solución de carbonatos, se trituraron por un lapso de 5 minutos.
- Se tomaron 10 ml de la solución sobrenadante de cada muestra y se colocó en un beaker de 100ml, se agregó 2.5 ml de solución al 25% de verde de malaquita. Se agitó enérgicamente y al cabo de 5 minutos se observó la coloración dada para cada muestra, y se colocó 10 ml de la solución resultante en una cuveta del espectrofotómetro.
- Para realizar la lectura se coloca la muestra en el espectrofotómetro, se lee y anota la lectura de la absorbancia obtenida para luego, despejarse la ecuación de la línea recta y obtener de esta manera la concentración en gramos por litro de sulfitos presentes en la solución.

5.2.3 Análisis de resultados

- Se creó una tabla de control, en la cual se anotaron los datos obtenidos de las absorbancias de cada una de las unidades experimentales y con la cual se pudo tener registros del experimento.
- Se analizaron en promedio 10 unidades experimentales por muestra, por lo que el procedimiento descrito anteriormente se repitió 720 veces con el fin de tener resultados por duplicado. Los resultados se tabularon en una serie de tablas de registro para su análisis estadístico final.
- Se realizó el cálculo estequiométrico correspondiente para establecer la cantidad de gramos de sulfitos por gramo de peso fresco de la unidad experimental.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Obtención del espectro de absorción:

Después de haber realizado el procedimiento respectivo y de haber obtenido los resultados de absorción en las distintas longitudes de onda y haberlos graficado se determinó que la máxima absorbancia para detectar el colorante verde de malaquita es de **560 nm**.

Esta fue la longitud de onda que se utilizó para analizar todas las muestras de embutidos a lo largo del estudio.

6.2 Series patrón y curva de calibración

La curva de calibración se obtuvo a través de una serie de 13 muestra patrón, las concentraciones y las lecturas respectivas para cada una de las concentraciones se muestran en la siguiente tabla.

Tabla No. 1

Absorbancia de las muestras patrón

No.	Concentración de las muestras patrón (variable X)	Absorbancias obtenidas (variable Y)
1	0,001000	0,315000
2	0,002000	0,312000
3	0,005000	0,310000
4	0,010000	0,310000

5	0,020000	0,298000
6	0,050000	0,170000
7	0,100000	0,155000
8	0,150000	0,150000
9	0,200000	0,160000
10	0,250000	0,140000
11	0,300000	0,158000
12	0,350000	0,138000
13	0,400000	0,150000

Concentración en gramos/100 ml.

6.2.1 Análisis de regresión y correlación simple

Los datos de la tabla anterior fueron sometidos a un análisis de regresión lineal y de correlación simple.

La ecuación de la línea recta obtenida es la siguiente:

$$Y = 0.314 - 0.43 X$$

En esta ecuación se puede observar un intercepto (Absorbancia) de 0.134 que indica que para el estudio cualquier lectura mayor a 0.314 está indicando ausencia de sulfitos en la muestra. Por otro lado la pendiente (-0.43), indica que existe una relación inversamente proporcional entre la coloración de la reacción del verde de malaquita y la concentración de sulfitos, es decir que a mayor intensidad en la coloración de la muestra, menor será la concentración de sulfitos presente.

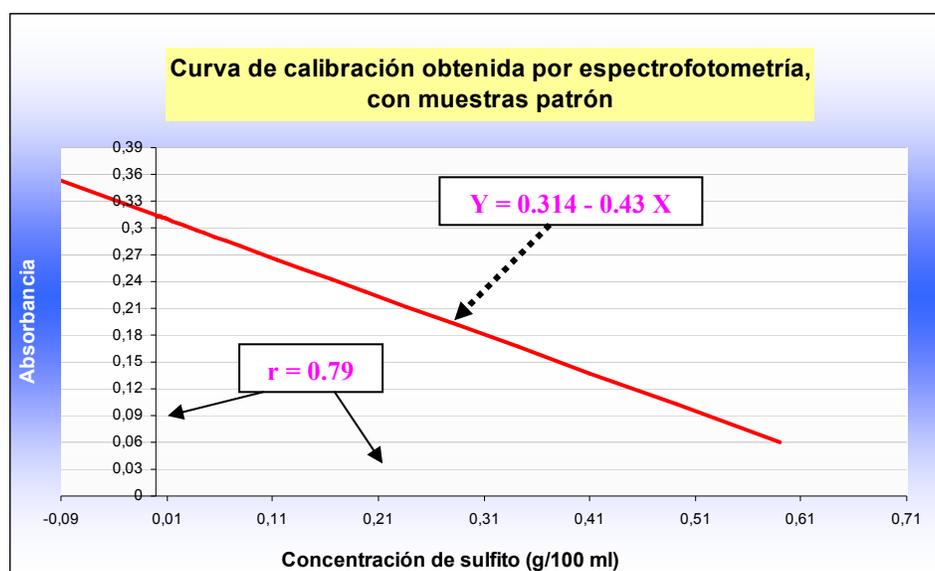
El análisis de correlación mostró un índice "r" de 0.79, a través del cual se puede inferir que existe buena correlación entre las variables y que en este caso, el método de análisis espectrofotométrico se adapta de buena forma para la cuantificación de sulfitos:

Gráfica de la ecuación

Al plotear la ecuación con datos estandarizados de concentraciones el comportamiento gráfico es el siguiente:

Gráfica No. 1

Ecuación de la línea recta obtenida de la serie de muestras patrón



Con esta gráfica se ilustra de mejor manera el análisis de regresión lineal al cual fueron sometidas las soluciones patrón.

La ecuación obtenida constituyó la herramienta fundamental para la cuantificación de sulfitos en las muestras, por simple despeje de expresiones.

6.3 Concentraciones de sulfitos de las muestras analizadas

Una vez establecidos los valores de la curva de calibración se procedió a la adquisición de las muestras en los mercados descritos anteriormente. El muestreo

realizado fue preferencial o sistemático, ya que a criterio del investigador se eligieron los puestos donde se obtuvieron las muestras, en cada puesto se adquirió una muestra de longaniza y una de chorizo de elaboración artesanal.

Las muestras fueron procesadas de manera que se pudiera obtener de cada una de ellas una solución, la cual contuviera la concentración de sulfitos a estudiar.

Cada una de las soluciones obtenidas de las muestras se sometió a la reacción del verde de malaquita y posteriormente al análisis espectrofotométrico para determinar las concentraciones de sulfitos detectadas.

Tabla No. 2

Concentración peso/peso de sulfitos en muestras obtenidas en el mercado 1.

NÚMERO	EMBUTIDO	PESO/GRS	Gramos de sulfito por cada gramo de muestra	Mg/g
1	LONGANIZA	43,86	0	0,00
2	CHORIZO	43,69	0	0,00
3	LONGANIZA	59,11	0	0,00
4	CHORIZO	44,82	0	0,00
5	LONGANIZA	103,64	0	0,00
6	CHORIZO	92,87	0	0,00
7	LONGANIZA	25,18	0,001293016	1,29
8	CHORIZO	27,48	0,001184794	1,18
TOTAL		440,65	0.00247781	2.48

Tabla No. 3

Concentración peso/peso de sulfitos en muestras obtenidas en el mercado 2.

NÚMERO	EMBUTIDO	PESO/GRS	Gramos de sulfito por cada gramo de muestra	Mg/g
1	LONGANIZA	56.75	0.000573712	0.57
1	CHORIZO	58.89	0.000552864	0.55
2	LONGANIZA	48.82	0.000666902	0.67
2	CHORIZO	45.32	0.000718406	0.72
3	LONGANIZA	32.26	0.001009242	1.01
3	CHORIZO	35.85	0.000908177	0.91
Total		277.89	0.0004429301	4.43

Tabla No. 4

Concentración peso/peso de sulfitos en muestras obtenidas en el mercado 3.

NÚMERO	EMBUTIDO	PESO/GRS	Gramos de sulfito por cada gramo de muestra	Mg/g
1	LONGANIZA	30.17	0.001079156	1.08
1	CHORIZO	25.64	0.001269818	1.27
2	LONGANIZA	73.39	0.001394271	1.39
2	CHORIZO	59.19	0.000550061	0.55
3	LONGANIZA	35.26	0.000923373	0.92
3	CHORIZO	57.78	0.000563485	0.56
4	LONGANIZA	28.62	0.001137601	1.14
4	CHORIZO	31.56	0.001031627	1.03
Total		341.61	0.007949393	7.95

Tabla No. 5

Concentración peso/peso de sulfitos en muestras obtenidas en el mercado 4.

NÚMERO	EMBUTIDO	PESO/GRS	Gramos de sulfito por cada gramo de muestra	Mg/g
1	LONGANIZA	43.84	0.007957053	7.96
1	CHORIZO	35.68	0.008473251	8.47
2	LONGANIZA	37.46	0.008070624	8.07
2	CHORIZO	43.97	0.006875724	6.88
3	LONGANIZA	32.55	0.009288036	9.29
3	CHORIZO	28.82	0.010490131	10.49
4	LONGANIZA	24.79	0.012195465	12.20
4	CHORIZO	30.94	0.00977135	9.77
Total		278.05	0.073121635	73.12

Tabla No. 6

Concentración peso/peso de sulfitos en muestras obtenidas en el mercado 5.

NÚMERO	EMBUTIDO	PESO/GRS	Gramos de sulfito por cada gramo de muestra	Mg/g
1	CHORIZO	36.71	0.000886901	0.89
1	LONGANIZA	37.41	0.000870306	0.87
2	CHORIZO	33.92	0.000959851	0.96
2	LONGANIZA	38.86	0.000837832	0.84
3	CHORIZO	42.63	0.000763738	0.76
3	LONGANIZA	37.21	0.000874984	0.87
4	LONGANIZA	55.72	0.000793002	0.79
4	CHORIZO	54.85	0.000678383	0.68

Total		337.31	0.006664995	6.66
--------------	--	---------------	--------------------	-------------

Tabla No. 7

Concentración peso/peso de sulfitos en muestras obtenidas en el mercado 6.

NÚMERO	EMBUTIDO	PESO/GRS	Gramos de sulfito por cada gramo de muestra	Mg/g
1	LONGANIZA	52.46	0.000620628	0.62
1	CHORIZO	49.12	0.001609727	1.61
2	LONGANIZA	65.42	0.000497679	0.50
2	CHORIZO	49.41	0.000658938	0.66
3	LONGANIZA	46.82	0.00069539	0.70
3	CHORIZO	42.83	0.000760171	0.76
4	CHORIZO	36.42	0.000893963	0.89
Total		342.48	0.005736496	5.74

Tabla No. 8

Concentración peso/peso de sulfitos en muestras obtenidas en el mercado 7.

NÚMERO	EMBUTIDO	PESO/GRS	Gramos de sulfito por cada gramo de muestra	Mg/g
1	LONGANIZA	25.7	0.001266854	1.27
1	CHORIZO	21.06	0.001545971	1.55
2	LONGANIZA	28.57	0.001139592	1.14
2	LONGANIZA	45.1	0.00072191	0.72
3	LONGANIZA	47.23	0.00093555	0.94
3	CHORIZO	21.67	0.001502452	1.50
4	LONGANIZA	30.15	0.001079872	1.08
4	CHORIZO	40.45	0.000804898	0.80
Total		259.93	0.008997099	9.00

Tabla No. 9

Concentración peso/peso de sulfitos en muestras obtenidas en el mercado 8.

NÚMERO	EMBUTIDO	PESO/GRS	Gramos de sulfito por cada gramo de muestra	Mg/g
1	LONGANIZA	32.26	0.001009242	1.01
1	CHORIZO	24.33	0.001338189	1.34
2	LONGANIZA	26.98	0.001206751	1.21
2	CHORIZO	27.27	0.001193918	1.19
3	LONGANIZA	61.04	0.001295376	1.30
3	CHORIZO	54.55	0.00081001	0.81
4	LONGANIZA	66.07	0.000492782	0.49
4	CHORIZO	41.71	0.000780584	0.78
Total		334.21	0.008126852	8.13

Tabla No. 10

Concentración peso/peso de sulfitos en muestras obtenidas en el mercado 9.

NÚMERO	EMBUTIDO	PESO/GRS	Gramos de sulfito por cada gramo de muestra	Mg/g
--------	----------	----------	---	------

1	LONGANIZA	41.62	0.003576098	3.58
1	LONGANIZA	31.15	0.001045205	1.05
2	LONGANIZA	41.59	0.000782836	0.78
2	LONGANIZA	43.06	0.000756111	0.76
3	LONGANIZA	31.91	0.001384708	1.38
3	LONGANIZA	40.45	0.000804898	0.80
4	CHORIZO	40.15	0.001969359	1.97
4	CHORIZO	38.75	0.00084021	0.84
Total		308.68	0.011159426	11.16

Esta concentración de sulfitos se obtiene al ser sometida cada solución de muestra a un espectrofotómetro que tiene un filtro con una longitud de onda de luz visible de 560 nm. La longitud de onda es específica para el colorante verde de malaquita, que se observa en los tubos de ensayo en donde se llevó a cabo la reacción del colorante con la solución de los embutidos a analizar. Este aparato lo que hace es emitir luz visible a la cuveta en donde se encuentra la muestra y esta absorbe cierta cantidad de energía y el aparato determina la cantidad de luz emitida después de haber atravesado la muestra. Las muestras que tuvieron poca concentración de sulfitos se observan coloreadas de verde oscuro, por lo tanto estas van a demostrar un comportamiento de interacción con la región visible del espectro electromagnético, de tal manera que, absorben la radiación electromagnética a medida que esta la atraviesa; por el contrario las muestras que tenían concentraciones altas de sulfitos cambiaron de color y se observaron de un color verde claro o transparente, por lo tanto estas muestras no absorben la radiación de la región visible del espectro electromagnético, dando un porcentaje de absorbancia de 0 y de transmitancia de 100. (9,31). Las muestras coloreadas absorbieron mayor cantidad de luz que las muestras transparentes. La importancia de este análisis es que la absorbancia de una muestra es inversamente proporcional a la concentración de moléculas de sulfitos de la misma, según la teoría de Beer-Lambert (9,31).

Los resultados obtenidos durante esta investigación indican que la técnica de espectrofotometría es buena para la cuantificación de sulfitos a través de la reacción del verde de malaquita, cuando no se cuenta con métodos más exactos. Sin embargo es necesario precisar que se requieren de muchos más ensayos para validar el método.

Los niveles o concentraciones de sulfitos obtenidos indican que no existe una medida exacta a utilizar en la elaboración de embutidos artesanales, esta se puede deber a la falta de información sobre los efectos nocivos de los sulfitos, por parte de las personas que los preparan. Por otro lado y según lo observado en el laboratorio la cantidad de sulfitos está relacionado con las características organolépticas de la carne de los embutidos.

Los embutidos donde se detectaron mayores cantidades de sulfitos generalmente presentaban características organolépticas desagradables. Por lo que se puede determinar que las personas dedicadas a la elaboración de embutidos en una forma empírica utilizan los sulfitos para mejorar las características de la carne a utilizar.

La mayoría de muestras de embutidos provenientes de los mercados municipales reaccionaron con el colorante verde de malaquita, lo que se representó en mayor o menor cantidad sulfitos presentes en las muestras. En algunos casos las concentraciones obtenidas (mg/gramo de muestra) fueron bajas por lo que en términos químicos podría determinarse como despreciables. Pero que en términos tóxicos pueden ser nocivos a la salud humana y pueden ser significativos a largo plazo.

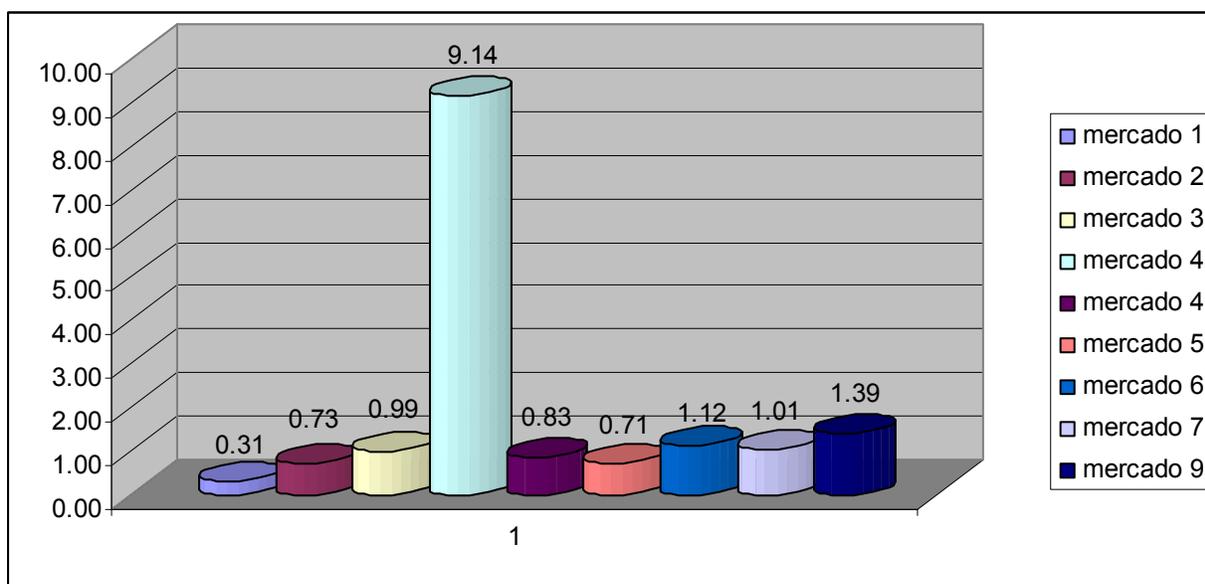
Los sulfitos actúan como antioxidantes, inhibiendo las reacciones de oscurecimiento producidas por ciertas enzimas. Se utilizan para mejorar el aspecto de la carne y dar impresión de mayor frescura, considerándose esta práctica un fraude al engañar al comprador con respecto a la calidad. Según las normas COGUANOR no está permitido la utilización de los sulfitos como práctica común de aditivos en la carne. Por lo tanto, al realizar el presente estudio se determina que las personas dedicadas a la elaboración de alimentos para humanos no cumplen con lo establecido por las normas COGUANOR.

Se hace necesario realizar estudios más extensos que incluyan otros puestos de expendio y otras áreas geográficas del país, en diferentes épocas con el fin de tener

una panorámica más exacta del comportamiento en cuanto al uso de este tipo de preservante.

Es necesario a la vez estudiar y darle seguimientos a los casos de intoxicaciones y afecciones por ingesta de sulfitos, reportados en los diferentes puestos de salud y de alguna manera correlacionarlos y poder monitorearlos.

Gráfica No. 2 Presentación de la concentración media en mg de sulfitos/gramo de muestra de embutidos obtenidos en mercados municipales de distintas zonas de la ciudad capital de Guatemala. (Octubre-Noviembre 2007)



6.4 Análisis estadístico

Con el fin de realizar un análisis de comparación de las concentraciones de sulfitos en las muestras obtenidas se procedió a realizar un análisis de varianza (ANDEVA) a un nivel de significancia del 5%, y las pruebas de Tukey y Duncan.

Se estableció que existe diferencia significativa y altamente significativa en cuanto a la concentración de sulfitos de las muestras obtenidas en los diferentes mercados. El mercado número 4 fue el que presentó mayores concentraciones de sulfitos en las muestras estudiadas, siguiéndole los mercados 7, 9 y 8.

Para establecer si existe diferencia significativa entre los dos tipos diferentes de embutidos se aplicó la prueba de Mann-Whitney a un nivel de significancia del 5%.

No se observó diferencias significativas en la concentración de sulfitos entre los dos tipos diferentes de embutidos.

VI. CONCLUSIONES

- Los embutidos realizados de manera artesanal obtenidos de los mercados municipales de las zonas 1, 5, 7, 11,12, 19 y 21 presentan en su composición distintos grados de concentración de sulfitos.
- El mercado número 4 fue el que presentó mayores concentraciones de sulfitos en las muestras estudiadas, siguiéndole los mercados 7, 9 y 8.
- Las personas que se dedican a la elaboración artesanal de embutidos en los mercados municipales analizados desconocen de los efectos nocivos que tiene la adición de sulfitos en embutidos, por lo que no su uso es desmedurado y sin control.
- Muchas de las muestras presentaron concentraciones de sulfitos que químicamente pueden considerarse no significativas, pero que en el metabolismo puede tener efectos nocivos por efecto de bioacumulación.
- El consumo continuado de productos cárnicos como los embutidos, que contengan sulfitos puede tener su efecto a mediano plazo, por lo que, se hacen necesario realizar más estudios como el presente.
- La técnica espectrofotométrica es un buen recurso para la cuantificación de sulfitos cuando no se cuenta con tecnología más sofisticada.

- El presente estudio se considera base fundamental para el desarrollo de una nueva línea de investigación dentro de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en el control de la calidad de los alimentos de origen animal.

VIII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda ampliar estudios como el presente a otras regiones del país, que contemplen diferentes épocas del año, ya que se considera que la necesidad de agregar preservantes a los embutidos están en función de la temperatura y otros aspectos climáticos.
- Es recomendable hacer estudios en otros productos cárnicos que requieran ser conservados tales como la carne molida.
- Con el fin de tener una panorámica más amplia de la problemática de los preservantes y su efecto sobre la salud humana se recomienda recopilar información en los centros de salud y hospitales públicos sobre los casos que se sospecha son producidos por contaminantes en los alimentos y correlacionarlos de alguna manera con el monitoreo de los niveles de sulfitos y otros preservantes en los mercados municipales.
- Es necesario aplicar técnicas más sofisticadas e instrumentales con mayor precisión para estudios posteriores de mayor magnitud.

X. BIBLIOGRAFIA

1. BAUM, S. 1981. **INTRODUCCION A LA QUIMICA ORGANICA Y BIOLOGICA**. CECSA. MEXICO.
2. Caspary, W.F. 1988. **Estructura y función del intestino delgado; La absorción retardada como principio terapéutico y tratamiento de la Diabetes Mellitus**. Excerpta Médica. Bayer.
3. Chechetkin *et al.* 1980. **Prácticas de bioquímica del ganado y aves del corral**. Editorial Mir. Moscú.
4. COGUANOR, 2006. Reglamento Técnico Unión aduanera Centroamericana; Reglamento técnico de aditivos alimentarios (en línea). Consultado 25 jul. 2006.
5. Daniel, W. 3ª ed. 1999. **Bioestadística**. UTEHA. México.
6. Elergonomista, 2006, Clasificación de los Aditivos Alimenticios (en línea). Consultado el 25 jul. 2006. Disponible en: <http://www.elergonomista.com/alimentos/clasificacionaditivos.htm>
7. Harper, H. 1981. **Manual de Química Fisiológica**. El manual moderno. México.
8. Hyde *et al.* 1977. **Analytical Toxicology Methods Manual**. Iowa State University Research Foundation, Inc. U.S.A.
9. Ikam, R. **Chromatography in organic microanalysis**. Academic Press. U.S.A.
10. Ióume, E. y Atillo, A. 1985. 3ª ed. **El laboratorio en la clínica; metodología analítica, Fisiopatologica e interpretación Serológica**. Buenos Aires.
11. Lehniger, A. 1979. **Curso breve de Bioquímica**. Omega. España.
12. Linstrongberg, W. 1977. **Química Orgánica**. Reverté. México.
13. Lock, O. 1994. **Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales**. Pontificia Universidad católica del Perú.
14. Miall-Sharp. 1989. **Diccionario de Química**. Alhambra. España.

15. Mohar et al. 1990. Bioquímica animal. Manual de prácticas de laboratorio. Ministerio de Educación superior- Instituto Superior de Ciencia Agropecuarias de la Habana, Cuba. Facultad de Medicina veterinaria.
16. Nalbandov, A. 1985. Fisiología de la reproducción. Acribia. España.
17. O'Conor, R. 1974. Problemas de Química Aplicada. HARLA. México.
18. Phillips, J. & Lewis, S. 1983. **Epithelial and cellular mechanisms in osmoregulation.** Journal of Experimental Biology. Vol. 106. USA.
19. Revista científica Investigación y Ciencia, años 1988 a 2002.
20. Ramírez-Monsalvo. 1996. Química I y II. Publicaciones Cultural. México.
21. Reartes Luis, 2001. Productos Químicos para los Alimentos (en línea). Consultado 25 jul. 2006. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos13/aditi/aditi2.shtml>
22. Rosenberg, J. 7ª ed. 1994. Química general. Mc GRAW-HILL. MEXICO.
23. ROSKOSKI, R. 2000. BIOQUIMICA. EDITORIAL Mc GRAW-HILL. MEXICO.
24. Shriner-Fusón-Curtis. 1991. Identificación sistemática de compuestos Orgánicos. Limusa México.
25. Smith & Wood. 1998. Biología celular. Addison-Wesley-Longman. México.
26. Swenson et al. 1999. 2ª ed. Fisiología de los animales Domésticos de Dukes. UTEHA. México.
27. <http://departments.oxy.edu/biology/Stillman/bi322/020701/lecture.htm><http://esgwww.mit.edu:8001/esgbio/chapters.html>
28. http://www.searteriosclerosis.org/aula_searteriosclerosis/tema2/metabolismo.html
29. www.monografias.com/trabajos11/lasvitam/lasvitam.shtml
30. www.monografias.com/trabajos/vitaminas/vitaminas.shtml
31. www.redtoxlac.com.

ANEXOS

ANEXO No. 1

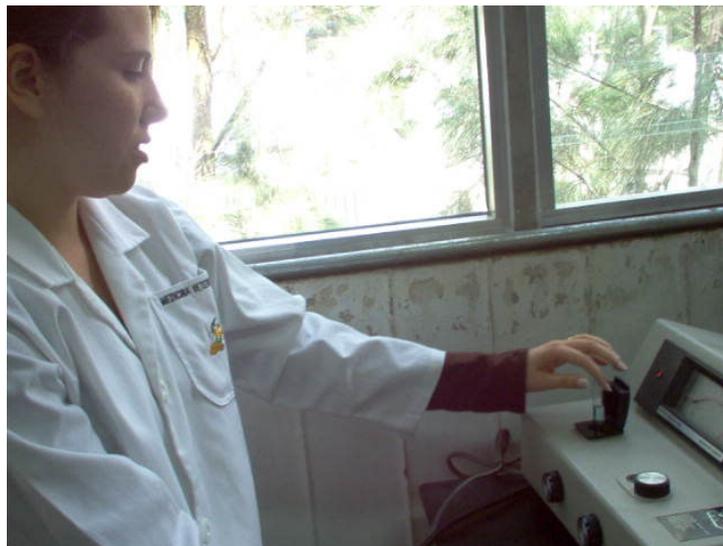
FOTOGRAFÍAS

Fotografía No. 1

Espectrofotómetros visibles.

**Fotografía No. 2 y 3**

Calibración del espectrofotómetro con el blanco.



Fotografía No. 4

Tubos de ensayo con las soluciones patrón de sulfitos para realizar la curva de calibración.



Fotografía No. 5

Agitador eléctrico con la mezcla de sulfitos de concentración conocida.



Fotografía No. 6

Tubos de ensayo con las soluciones patrones de sulfitos, para realizar la curva de calibración.

